ETUDE ULTRASTRUCTURALE DES DIFFÉRENTES RÉGIONS DE L'HYPHE CHEZ *AUREOBASIDIUM PULLULANS* (DE BARY) ARNAUD.

par Liliane SIMON *

RÉSUMÉ. – Cette étude aborde les aspects ultrastructuraux et cytochimiques des différentes catégories d'organites et formations cellulaires, depuis l'apex jusqu'à la zone plus profonde différenciée de l'hyphe. Les observations réalisées dans les différents territoires et le marquage des polysaccharides (technique de THIERY) confirment l'importance métabolique des régions sub et sous-apicales où les systèmes membranaires et vacuolaires se situent au carrefour des fonctions de phagocytose et d'autophagie. L'appareil de Golgi, atypique, est présent dès la région sub-apicale, sous forme de cisternes simples, où il participe aux fonctions d'exocytose. Dans la région sous-apicale proximale, les mitochondries en forme de cloche séquestrent une portion cytoplasmique appauvrie en ribosomes mais où l'on discerne des associations polysomales. Les plasmalemmasomes situés dans l'espace périplasmique sont observés, sous forme lenticulaire simple, dès la région sous-apicale proximale ; dans les régions plus profondes ils deviennent plus complexes, plurivésiculaires et sont localisés, soit sous la paroi, soit dans les compartiments cytoplasmiques. Les réserves en lipides, glycogène et matériel métachromatiques sont formés dès la région sous-apicale proximale. L'apex de l'hyphe est classiquement occupé par des vésicules sécrétrices issues de portions dilatées de profils endomembranaires absorbant les constituants polysaccharidiques. Ces résultats qui soulignent le rôle physiologique important de la zone sous-apicale sont discutés comparativement à d'autres données.

SUMMARY. – This study is an approach to ultrastructural and cytochemical aspects of the various cellular organelles and formations in relation to their location in the hyphae, from the apex to a more distal differentiated zone. Polysaccharides labelling obtained by THIERY test and observations of the different regions have shown the metabolic importance of the subapical zone and a slightly more distal zone (« sous-apicale ») where membrane and vacuolar systems are implicated in phagocytic and autophagic functions. An atypic Golgi apparatus made up of single cisternae participates to exocytose functions and is found already in the subapical zone. Bell shaped mitochondria in a slightly more distal zone (« sous-apicale proximale ») are folded around an area of cytoplasm in which ribosomes are less numerous but grouped in polysomes. Behind the sub-apical zone the plasmalemmasomes, located in periplasmic space, have a single lenticular morphology but in the older zones (« sous-apicale en voie de différenciation » and « différenciée ») they are represented by plurivesicular structures also located under the wall, or in the cytoplasmic compartments. Lipidic, glycogenic and metachromatic reserves are formed near the sub-apical zone (« sous-apicale proximale »). The hyphal apex is occupied by secretory vesicules derived from enlarged endomembranous profiles where polysaccharides are adsorbed. These results show the very important physiological function of the zone located below the apex (« sous-apicale ») and are discussed in relation to other data.

MOTS-CLÉS : Hyphe, MET, Cytochimie, ultrastructure, *Aureobasidium pullulans.*

* Laboratoire de Biologie et Cytophysiologie végétales - UER des Sciences de la Nature - Faculté des Sciences - 44072 NANTES Cedex FRANCE.

INTRODUCTION

Aureobasidium pullulans (de Bary) Arnaud est un Micromycète très ubiquiste dont l'écologie est bien connue depuis les travaux de COOKE (1959, 1961), DICKINSON (1976) et DOMSCH *et al.* (1980). Il se développe de manière saprophytique sur les feuilles, les bourgeons, les baies, les vieilles peintures murales, l'humus des forêts et peut même envahir les tissus végétaux (JUMP, 1938 ; DAVENPORT, 1966 ; PUGH et BUCKLEY, 1975) ou animaux (WYNNE and GOTT, 1956) où il provoque des affections. Selon la nature du substrat ou du milieu de culture sur lesquels il croît, il peut se présenter sous différentes formes: sporulantes (blastospores et chlamydospores) ou filamenteuses (pseudo-mycélium ou mycélium vrai) (LUTERAAN, 1954 ; RAMOS *et al.*, 1975 ; BIELY *et al.*, 1979 ; KOCKOVA-KRATOCHVILOVA *et al.*, 1980). Des études ultrastructurales, relatives aux formes sporulantes ont été entreprises en microscopie électronique à transmission (DURREL, 1968 ; REISINGER *et al.*, 1974 b) ou en microscopie à balayage (PECHAK ET CRANG, 1977). Les formes blastosporées et (ou) chlamydosporées ont également fait l'objet de recherches concernant plus précisément la structure et la composition chimique de la paroi cellulaire (BROWN *et al.*, 1972 ; REISINGER *et al.*, 1974 a ; GADD et GRIFFITHS, 1980). Le processus de bourgeonnement cellulaire a, par ailleurs, retenu l'attention de RAMOS et GARCIA-ACHA (1975) qui ont pu le comparer à celui d'autres levures, oxydative (*Rhodotorula glutinis*) ou fermentative (*Saccharomyces cerevisiae*). La méthode de microanalyse par diffraction des rayons X a permis à DOONAN *et al.* (1979) d'étudier la composition élémentaire des granules de polyphosphates contenus dans le cytoplasme des blastospores.

On constate donc qu'il existe des informations ultrastructurales relatives aux formes sporulantes de ce micro-organisme. Une importante lacune demeure, cependant, en ce qui concerne les formes mycéliennes qui n'ont pas fait l'objet d'un tel type d'investigations ; rappelons les seules recherches de DURREL (1968) sur la formation centripète des cloisons transversales et la structure du pore septal. Il convient de combler cette lacune afin de pouvoir, notamment, établir les relations structurales ou métaboliques entre formes sporulantes et hyphales de ce micro-organisme. Dans un travail précédent, nous avons étudié, en microscopie électronique à balayage, les hyphes prostrées, cultivées en milieu solide, à différents stades de leur développement (SIMON, 1980). Dans ce travail, nous présentons les résultats d'études menées en microscopie électronique à transmission sur les différents territoires mycéliens depuis l'apex (dont la structure n'a jamais été observée) jusqu'aux régions plus profondes différenciées.

MATERIEL ET METHODES

Les cultures d'une souche, CYPP14, récoltée dans le vignoble nantais (SIMON et POULARD, 1979) ont été effectuées en boîtes de Pétri, sur milieu nutritif solide à l'extrait de malt (5 %) gélosé (3 %) convenant bien à la production et la croissance des hyphes prostrées de ce champignon.

Les échantillons de mycélium ont été prélevés sur des cultures âgées de 20 heures. Des petits blocs cernant les régions riches en hyphes ont été découpés (dimensions : 1,5 x 1,5 x 1 mm) dans le milieu de culture, puis fixés par une solution de glutaraldéhyde à 4 % tamponnée par du cacodylate de sodium 0,07 M à pH 7,2 pendant 2 H 30 à température ambiante. Après 3 lavages successifs par le tampon cacodylate à pH 7,1, les échantillons ont été postfixés par le tétroxyde d'osmium à 2 % dans un tampon phosphate à pH 7. La déshydratation à l'éthanol a été interrompue par un bain contrastant de 2 H à 4° C dans une solution d'acétate d'uranyle à 1 % dans l'acétone à 70° GL; la déshydratation a été ensuite reprise, puis terminée par plusieurs bains successifs d'acétone. L'imprégnation des pièces a été suivie par leur inclusion dans un mélange d'épon.

Les coupes ultrafines ont été effectuées avec un ultramicrotome PORTER BLUM MT2, montées sur grilles de cuivre de 100 meshs, recouvertes d'un film de parlodion, puis contrastées par l'acétate d'uranyle à 1 %. Des coupes ont été colorées par le protéinate d'argent (PATAg) pour la détection polysaccharidique ; dans ce cas, la méthode par flottaison de THIERY (1967) a été suivie, les coupes-témoins n'ont pas subi d'oxydation par l'acide périodique. La présence ou l'absence d'un marquage par le protéinate d'argent sur les sctructures cellulaires et, en particulier sur le plasmalemme et ses divers replis, a facilité leur identification en plasmalemmasomes ou lomasomes selon la distinction proposée entre les deux types de formation par COULOMB (1973) dans le méristème radiculaire de *Scorzonera hispanica*.

Les préparations ont été observées au microscope électronique à transmission JEOL-120 CX, sous une tension d'accélération de 100 KV.

RESULTATS

REGION APICALE

Elle présente une polarité nette qui se manifeste par la présence de nombreuses vésicules qui confluent à l'apex des filaments (Fig. 1, 3 et 4). Ces vésicules, distribuées dans le cytoplasme sont de deux types : *(i)* les plus volumineuses présentent un diamètre qui varie de 100 à 180 nm (Fig. 4) ; leur contenu finement granuleux réagit plus ou moins fortement au test de THIERY montrant quelques grains épars de protéinate d'argent (Fig. 4), leur membrane limitante réagit positivement à ce test et apparaît contrastée, de manière comparable au plasmalemme avec lequel elles fusionnent (Fig. 4) ; nombreuses à l'apex, ces vésicules sont aussi distribuées plus profondément dans la région sub-apicale de l'hyphe (Fig. 1, 4 et 5) ; certaines, légèrement plus volumineuses, contiennent 2 ou 3 granules internes, arrondis, non électron-denses (Fig. 2) et non réactifs à l'épreuve de THIERY ; ces vésicules sont issues des extrémités de certains profils membranaires plus dilatés que ceux du reticulum endoplasmique, et dont la membrane apparaît marquée, contrairement à ceux-ci, par le protéinate d'argent. Après constriction de ces profils dilatés, les vésicules formées se déta-

chent et migrent vers l'extrémité apicale où elles fusionnent avec le plasmalemme. *(ii)* les autres vésicules apicales, peu denses aux électrons, sont plus difficiles à discerner sur les préparations classiquement fixées et contrastées ; elles sont plus petites (microvésicules, de taille comprise entre 400 et 600 Å) et dispersées plus irrégulièrement à l'apex que les vésicules précédemment décrites (Fig. 3, 4) ; ni leur contenu, ni leur membrane limitante ne sont marqués par le test PATAg (Fig. 4). Les images observées dans les régions hyphales sous-jacentes montrent qu'elles sont fréquemment associées aux dictyosomes et au reticulum endoplasmique.

Des profils de reticulum pourvus de ribosomes avoisinent cette région apicale (Fig. 2 et 3), mais ne semblent pas ou peu la pénétrer. Le plasmalemme présente un aspect faiblement sinueux (Fig. 4) ; il est marqué par les grains de protéinate d'argent. L'observation des coupes-témoins confirme bien son activité dans le transit polysaccharidique, depuis les vésicules sécrétrices jusqu'à la paroi cellulaire. Celle-ci, encore mince, est perméable aux électrons après fixation classique et n'est observable qu'après marquage par le test PATAg (Fig. 4) ; elle est constituée d'une couche granulaire dont l'épaisseur constante est de 900 Å environ.

REGION SUB-APICALE

Cette région comporte un protoplasme très riche en ribosomes (Fig. 1, 2) dont la forte densité rend plus difficile la détection d'une association éventuelle en polysomes ; les mitochondries et les cytomembranes sont orientées parallèlement à l'axe d'élongation du filament (Fig. 1, 2). Les mitochondries, nombreuses, ovalaires, longues et cylindriques sont plus ou moins flexueuses ; leurs crêtes internes sont très légèrement dilatées (Fig. 4). On observe quelques saccules golgiens rudimentaires (Fig. 1, 2). Les vésicules sécrétrices contienent ou non, comme celles de l'apex, plusieurs granules peu denses aux électrons (Fig. 1 et 2). Leur membrane limitante et leur contenu sont assez faiblement marqués par le test PATAg indiquant une présence polysaccharidique moins élevée que celle des vésicules apicales.

Les profils du réticulum endoplasmique, nombreux, sont disposés parallèlement à l'axe de l'hyphe. Le plasmalemme montre un marquage comparable à celui de l'apex. La paroi présente un début d'organisation en 2 couches où diffère l'intensité du marquage (Fig. 4).

REGION SOUS-APICALE PROXIMALE

Cette zone syncytiale (Fig. 5 et 7) prolongeant la région précédemment décrite, est remarquable par sa très grande densité en ribosomes et en organites cellulaires : noyaux, mitochondries, cisternes et vésicules golgiennes (Fig. 5) et par le grand développement des cytomembranes (Fig. 7). A la limite de cette zone et de la zone précédemment décrite, peuvent être discernés les premiers indices d'une vacuolisation précoce (Fig. 5) qui se confirme rapidement (Fig. 7).

Certaines jeunes vacuoles renferment déjà une ou plusieurs formations osmiophiles (Fig. 12). L'appareil de Golgi est représenté par des cisternes simples dont les marges ampullaires engendrent des vésicules dont la membrane limitante est réactive au test PATAg (Fig. 9); ces vésicules, en position d'abord médiane dans l'hyphe (Fig. 5) subissent une évolution de leur taille (80 à 300 nm), de leur morphologie et de leur physiologie ; certaines se chargent de granules peu denses aux électrons (Fig. 5, 10, 13) et migrent à proximité du plasmalemme (Fig. 10, 11, 14). Ce sont les organites les plus caractéristiques de cette région, leur diamètre reste inférieur à celui des petites vacuoles (500 nm). Leur situation permet d'envisager qu'elles joueraient un rôle dans le courant hétérophagique entre vacuole et plasmalemme.

Les noyaux, nombreux, de diamètre compris entre 2 et 3 µm se succèdent régulièrement dans le plan médian de l'extrémité hyphale, ils sont reliés les uns aux autres par les profils du reticulum endosplasmique (Fig. 12) ainsi qu'avec le plasmalemme et/ou la membrane mitochondriale.

Les mitochondries sont longues, flexueuses, souvent repliées sur elles-mêmes, emprisonnant ainsi dans l'aire séquestrée une portion cytoplasmique appauvrie en ribosomes (Fig. 6, 7 et 8); en section transversale, elles prennent alors l'aspect d'un manchon cernant une plage cytoplasmique de plus faible densité où l'on discerne des associations nettes de ribosomes en polysomes (Fig. 6 et 8) ; dans ces formes, il faut remarquer que les crêtes internes sont plus nettement dilatées à leurs extrémités, indiquant bien un comportement oxydatif du microorganisme. Les profils du reticulum endoplasmique de type « rough », difficiles à observer en raison de la densité en ribosomes cytoplasmiques (Fig. 5 et 7) sont fréquemment en relation avec le plasmalemme (Fig. 14).

Le test de THIERY permet de mettre en évidence des précipités peu nombreux de protéinate d'argent au niveau de petites particules polysaccharidiques, dispersées dans le cytoplasme (Fig. 9 et 10) parfois situées à proximité du plasmalemme (Fig. 9 et 11) et des marges des cisternes golgiens (Fig. 9 et 13).

Le plasmalemme (THIERY (+)) présente un aspect plus ondulé que dans la zone apicale (Fig. 9, 11 et 14). On remarque la formation de replis intracytoplasmiques (Fig. 11), des images de cytose et la présence de formations périplasmiques ou plasmalemmasomes (Fig. 9 et 10).

L'épaisseur de la paroi polysaccharidique atteint 1500 à 3000 Å selon les filaments observés ; elle est constituée de deux couches granulaires : l'une périphérique, mince et plus dense en grains d'argent, l'autre plus interne périplasmique moins réactive au test PATAg (Fig. 9).

REGION SOUS-APICALE EN COURS DE DIFFERENCIATION

Elle est caractérisée par la présence de vacuoles de taille plus ou moins grande. Le cytoplasme dense est toujours très riche en ribosomes (Fig. 15, 17 et 23) dont l'abondance ne permet pas de distinguer les associations. Un abondant

reticulum endoplasmique « rough » peut être observé (Fig. 17) ; certaines portions situées dans la région périplasmique, très proches du plasmalemme, sont légèrement marquées par le protéinate d'argent et participent nettement à l'élaboration vacuolaire (Fig. 18 et 19) ; leur réactivité au test de THIERY est comparable, dans ces zones, à celle du plasmalemme (Fig. 18). D'autres profils, nettement THIERY (+) s'associent aux plasmalemmasomes et interviennent avec ceux-ci dans la capture de matériel polysaccharidique périplasmique (Fig. 16). Les dictyosomes atypiques sont fréquents dans la région cytoplasmique périphérique, les vésicules ont une taille supérieure à celle de la région précédente (comprise entre 100 et 750 nm) et présentent aussi un contenu peu dense aux électrons, parfois granuleux. Elles peuvent être disposées, dans le cytoplasme, à proximité du plasmalemme, de certains profils du reticulum endoplasmique bien qu'une relation fonctionnelle ne puisse être identifiée avec certitude (Fig. 17) ou à proximité des vacuoles (Fig. 19) prenant alors contact avec le tonoplaste. Des microvésicules (40 à 60 nm) existent dans cette région (Fig. 19). Il faut remarquer leur similitude de taille et de non-réactivité à l'épreuve PATAg avec celle des granules intra-vésiculaires golgiens (50 à 60 nm). Nous avons pu observer, bien que très rarement, la présence de quelques microtubules allongés dans le sens d'élongation de l'hyphe.

Comme dans la région sous-apicale proximale, on observe des mitochondries repliées en forme de cloche.

Les particules polysaccharidiques sont plus abondantes et volumineuses que dans la région sous-apicale proximale ; certaines sont nettement associées en rosette de glycogène (Fig. 19) et constituent parfois des plages abondantes au voisinage des septa intercellulaires (Fig. 19).

Les vacuoles, localisées en périphérie cellulaire, sont rapidement caractérisées par des encombrements membranaires (Fig. 15). Le tonoplaste réagit positivement au test de THIERY dans les vacuoles les plus jeunes (Fig. 19) ; dans les autres, on observe fréquemment des vésicules intravacuolaires, des plages cytoplasmiques (Fig. 25 et 26) et des enroulements membranaires (Fig. 15) plus ou moins marqués par le test PATAg ; certains enroulements simulent des corps concentriques denses (Fig. 22) ; ces différentes images permettent de préciser le rôle autophagique des vacuoles, analogue à celui des vacuoles des levures (TRONCHIN *et al.*, 1982) et des végétaux supérieurs (COULOMB, 1981). Celles dont le diamètre est supérieur à 350 nm contiennent des formations osmiophiles électron-denses localisées dans l'espace vacuolaire (Fig. 17, 22) ou accrochées au tonoplaste. Ces formations ne sont plus apparentes dans les coupes oxydées par l'acide périodique (Fig. 27), mais demeurent dans les préparations-témoins (Fig. 22). Elles contiennent l'élément Calcium en quantité plus élevée que dans le suc vacuolaire (SIMON *et al.*, 1984) et constituent vraisemblablement les precurseurs des granules métachromatiques détectables en microscopie photonique par la coloration au bleu de toluidine.

Des globules lipidiques dont la taille avoisine 0,5 à 1 μm peuvent être observés dans l'espace périplasmique ; ils présentent parfois des enroulements mem-

branaires (Fig. 21) d'origine catabolique ; leur aspect rappelle celui des « dense-bodies » et des « finger-prints » décrits par BEAKES (1980 b) dans les oospores de *Saprolegnia ferax*.

Dans cette région, le plasmalemme réagit encore positivement au test de THIERY (Fig. 16 et 20) ; il présente un aspect sinueux, ondulé et détermine fréquemment des replis intracytoplasmiques également THIERY (+) (Fig. 20 et 28). Ces replis apparaissent comme de simples expansions intracytoplasmiques associées à la capture des cristallisations polysaccharidiques (Fig. 20) ou deviennent assez profonds et se doublent de replis internes du tonoplaste (Fig. 23) constituant de véritables figures d'endocytose ; ils peuvent aussi capter des figures d'enroulements membranaires (figures myéliniques) en position périplasmique (Fig. 28). Outre ce type de replis plasmalemmiques simples, il existe d'autres replis en « cuillère » qui peuvent être plus profonds englobant une ou plusieurs aires périplasmiques et aboutissant à la formation de plasmalemmasomes d'aspect plurivésiculaire (Fig. 24) où la membrane limitante de chaque vésicule est THIERY (+) et le contenu perméable aux électrons ; il serait souhaitable de préciser par d'autres techniques si ces particularités morphologiques correspondent à des stades métaboliques différents.

La paroi cellulaire (150 nm environ) montre deux couches polysaccharidiques (Fig. 16) dont la plus externe est plus dense en grains d'argent. Dans cette région apparaissent les premiers septa intercellulaires : ils sont constitués de 3 couches polysaccharidiques (Fig. 27) ; les deux plus externes présentent des grains d'argent irrégulièrement distribués, contiguës aux plasmalemmes de deux cellules successives, encadrant une couche médiane de type lamellaire. Malgré de nombreuses observations nous n'avons pu observer de pore septal, tout au plus une légère diminution de l'épaisseur du septum dans sa zone médiane.

REGION DISTALE

Cette région est caractérisée par le développement du vacuome qui repousse cytoplasme et noyaux à la périphérie cellulaire (Fig. 29 et 33). Les mitochondries peu flexueuses, sont allongées dans le sens d'élongation de l'hyphe et ne présentent plus les formes de séquestration décrites dans les régions sous-apicales.

Les vacuoles sont remarquables par la présence de petits granules (30 à 200 nm de diamètre) très denses aux électrons et précurseurs des granules plus gros (jusqu'à 850 nm de diamètre) dont le contenu apparaît structuré et granuleux réservant des plages de moindre densité aux électrons (Fig. 30) ; les vacuoles comportent encore de nombreux enroulements membranaires (Fig. 29) et des vésicules à contenu clair qui ne sont autres que les petits granules précurseurs métachromatiques dont le contenu minéral a été expulsé sous le choc du bombardement électronique de tension élevée.

La paroi, dont l'organisation est comparable à celle qui a été décrite dans la région précédente, atteint une épaisseur de 200 à 400 nm.

DISCUSSION

Les observations ultrastructurales effectuées dans la région terminale des hyphes de l'*Aureobasidium pullulans* nous ont permis de constater une organisation apicale comparable à celle qui a été décrite chez quelques Ascomycotinés, Basidiomycotinés, Deutéromycotinés (GIRBARDT, 1969 ; GROVE *et al.*, 1970) et désormais reconnue classiquement : polarisation apicale de vésicules sécrétrices qui fusionnent avec le plasmalemme et participent à l'élaboration et l'extension du matériel parietal. Chez ce micro-organisme, les vésicules sont abondantes sur une longueur de 1,5 µm environ ; elles sont issues de la fragmentation de profils membranaires endoplasmiques dilatés dont les membranes sont réactives au test de THIERY traduisant bien une activité dans le transit polysaccharidique. Ces résultats sont en accord avec ceux qui ont été obtenus par SCHRANTZ (1977), dans l'apex des hyphes de la zone supérieure du clavule de *Xylaria polymorpha*.

Notre attention a été retenue plus longuement par les régions sub- et sous-apicales proximales, très riches en ARN et organites cellulaires. On connaît, en effet, l'importance de ces zones, dans les activités physiologiques de nutrition et de croissance des hyphes (JENNINGS, 1979) ; chez *Aureobasidium pullulans* elles sont caractérisées par une forte densité en ribosomes, de nombreuses associations RE-noyaux-mitochondries et une activité golgienne qui s'exerce à partir d'un Golgi atypique, constitué de cisternes simples, petits (environ 350 nm de diamètre) dont les marges ampullaires engendrent des vésicules qui constituent les organites les plus caractéristiques de ces régions : des composés polysaccharidiques sont adsorbés sur leur membrane assez faiblement réactive au test THIERY. Certaines de taille plus importante sont chargées de granules internes non électron-denses et non réactifs au test PATAg. Nous assimilerons ces formations aux microvésicules et enclaves à microvésicules décrites par OLAH *et al.* (1977) dans les régions terminales d'hyphes et dans les cellules sporogènes de diverses Basidiomycotinés et Deutéromycotinés ; chez *Saprolegnia ferax* (oospores) BEAKES (1980 a) a aussi remarqué ce type de vésicules au cours de la phase qui précède la formation du tube germinatif. Notre étude montre que chez *Aureobasidium pullulans*, dans les régions sub- et sous-apicales, ces vésicules sont peu chargées de matériaux polysaccharidiques ; en raison de leur situation proche du RE, du plasmalemme et des vacuoles avec lesquelles elles fusionnent, nous pensons qu'elles assurent un rôle de transit de matériel entre ces formations, sans qu'il soit possible, dans l'état actuel de nos observations, d'en préciser l'orientation. Elles sont présentes dans les autres régions hyphales, à l'exception de la zone plus profonde différenciée où nous ne les avons pas rencontrées; il semble que celles qui sont chargées de granules internes puissent fusionner pour former de petites vacuoles spéciales. Ces observations confrontées à celles de FEVRE *et al.*, (1977, 1978, 1979, 1982) chez le *Saprolegnia monoïca* nous permettent de comparer ces vésicules à celles qui ont été caractérisées par ces auteurs et qui assureraient le transport de métabolites (enzymes hydrolytiques et synthétiques en particulier) depuis le RE et l'appareil

de Golgi jusqu'au plasmalemme et la paroi cellulaire dont elles assurent l'expansion par exocytose. Notons que selon KRISKEN (1982) il existerait bien chez les organismes fongiques et l'ensemble des végétaux inférieurs, des vésicules de transition suggérant un flux continu entre RE et appareil de Golgi.

Deux ou trois séries de vésicules peuvent donc être discernées dans l'extrémité hyphale de l'*Aureobasidium pullulans* : celles qui, accumulées de façon polarisée à l'apex dérivent de profils endomembranaires dilatés et celles des régions sous-jacentes, issues de la fragmentation marginale de cisternes golgiens simples constituant un appareil de Golgi atypique dont les dictyosomes ne résultent pas d'empilements de saccules comme on peut le voir chez les Zygomycètes. Rappelons à ce propos les études de McLAUGHLIN (1972) qui rapporte que les champignons supérieurs sont pourvus d'un appareil de Golgi primitif, que l'on peut identifier essentiellement par la formation de vésicules sécrétrices. La structure de cet organite cellulaire peut-elle permettre de soutenir les vues systématiques selon lesquelles *A. pullulans* serait bien rattaché aux champignons supérieurs ? On sait déjà que la variété *lini* (Lafferty) Cooke représente le stade imparfait de l'Ascomycotinée *Guignardia fulvida* sp. nov. (SANDERSON, 1964).

D'autres vésicules de plus petit diamètre (environ 450 Å) ou microvésicules, non réactives au test PATAg, dont l'origine n'a pu être précisée, sont présentes dans les régions apicale et sous-apicale de l'hyphe.

Des mitochondries repliées sur elles-mêmes, en forme de cloche, existent dans la région sous-apicale proximale tandis que les régions sub-apicale et plus profondes du thalle ne présentent que des formes simples et allongées. Des mitochondries annulaires auxquelles étaient régulièrement liés des corps électron-denses (« dense-body vesicles ») ont été observées par BEAKES (1980) au cours de la maturation et de la germination de l'oospore chez *Saprolegnia ferax* ; pour cet auteur et, dans ce cas particulier, les mitochondries seraient impliquées dans le catabolisme des lipides neutres au cours des phénomènes de développement. Chez *Aureobasidium pullulans*, les association polysomales caractérisant les aires cytoplasmiques sequestrées dans le repli mitochondrial nous permettent de penser qu'elles pourraient bien présenter une activité métabolique particulière liée aux synthèses protéiques et qu'il conviendra de préciser.

La présence de lipides et de réserves polysaccharidiques (glycogène) est également caractéristique des régions sous-apicale proximale et distale différenciée, impliquées dans le catabolisme oxydatif. Les granulations lipidiques présentent fréquemment des figures d'enroulements membranaires. On sait maintenant que ces figures ne sont pas des artefacts : les recherches de COLE *et al.* (1971) ont démontré leur authenticité dans les conidies de *Scopulariopsis brevicaulis*, traitées en cryo-décapage (freeze etching) et comparativement par les agents chimiques classiques.

Chez *Aureobasidium pullulans* les premières réserves polysaccharidiques intracytoplasmiques apparaissent, dès la région sous-apicale proximale et cristallisent rapidement, dans la région sous-apicale distale, sous forme de rosettes et de glycogène qui s'accumulent à proximité des régions septales.

Les plasmalemmasomes de plus en plus fréquents, depuis la région sous-apicale proximale jusqu'aux régions plus profondes différenciées sont engendrés par des replis en « cuillère » du plasmalemme réactifs au test THIERY ; ces replis capturent des portions cytoplasmiques repoussées par exocytose dans l'espace périplamique qui apparaît ainsi occupé par des formations lenticulaires plus ou moins applaties qui rappellent les organites décrits par MOORE *et al.* (1961), chez divers *Mycota*, sous le terme lomasomes. Dans les régions distales, la morphologie des plasmalemmasomes devient complexe et correspond à celle des formations plurivésiculaires décrites par EYME *et al.* (1975) chez deux espèces d'*Agaricus*. Chez *Aureobasidium pullulans* certains profils endomembranaires (PATAg +) pourraient participer à leur formation.

D'autres types de replis plasmalemmiques dans les régions sous-apicales en voie de différenciation et différenciées, suggèrent des images de capture de matériel pariétal poussé contre le tonoplaste, puis à l'intérieur de vacuoles préexistantes où il pénètre par protrusion. Ces images d'endocytose rappellent celles qui ont été décrites par BOISSIERE (1982) chez deux mycosymbiotes du *Peltigera canina* et *Umbilicaria pustulata*. Les fonctions de phagocytose du tonoplaste des levures sont maintenant connues (TRONCHIN *et al.*, 1982).

Les vacuoles apparaissent dès la zone sous-apicale proximale ; elles sont engendrées par deux processus différents : les plus externes dérivant de dilatations des profils du reticulum endoplasmique, les autres d'une confluence de vésicules golgiennes dont la membrane est réactive au test PATAg. Dès leur apparition, ces vacuoles renferment de petits granules osmiophiles, denses aux électrons au sein desquels existe l'élément calcium et qui sont les précurseurs des granules de polyphosphates des régions âgées du thalle (SIMON *et al.*, 1984). Des vésicules et des poches de matériels cytoplasmiques abondantes dans les vacuoles des zones sous-apicales en voie de différenciation, assurent probablement un transit de matériel entre cytoplasme et vacuoles. Celles-ci présentent, par ailleurs, de nombreux enroulements membranaires qui apparaissent d'emblée dans les jeunes vacuoles et sont développés avec profusion dans celles des zones différenciées. Chez les végétaux supérieurs, il a été montré que ces formations traduisent l'implication vacuolaire dans le processus autophagique (MARTY, 1970 ; COULOMB, 1981) et assurent l'élimination d'organites vieillis.

Cette étude qui a l'originalité d'aborder les aspects ultra-structuraux des hyphes de l'*Aureobasidium pullulans*, depuis l'apex jusqu'à la zone différenciée, précise le rôle physiologique très important de la zone sous-apicale où l'on distingue (1) l'implication vacuolaire dans les processus d'endocytose et autophagie (2) les fonctions d'exocytose du plasmalemme (3) les particularités métaboliques mitochrondriales (4) l'accumulation de glycogène et des précurseurs de polyphosphates (5) l'activité golgienne et (6) le turn-over lipidique.

Ces diverses activités métaboliques doivent être confrontées avec la haute spécialisation de ce micro-organisme dans les synthèses enzymatiques extracel-

lulaires (FEDERICI, 1982; IMSHENETSKY *et al.*, 1981; PASQUIER-CLOUET, 1984).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mlles C. THEODET, R. REBERTEAU et M. J. LEROY pour leur amicale ambiance technique.

BIBLIOGRAPHIE

BEAKES G.W., 1980 a. – Electron microscopic study of oospore maturation and germination in an emasculate isolate of *Saprolegnia ferax*. 2. Wall differenciation. *Can. J. Bot.*, 58 : 195-208.

BEAKES G.W., 1980 b. – Electron microscopic study of oospore maturation and germination in an emasculate isolate of *Saprolegnia ferax*. 3. Changes in organelle status and associations. *Can. J. Bot.*, 58 : 209-227.

BIELY P., KRÁTKÝ Z., PETRÁKOVÁ E. and BAUER S., 1979. – Growth of *Aureobasidium pullulans* on waste water hemicelluloses. *Folia Microbiol.*, 24 : 328-333.

BOISSIERE J.C., 1982. – Contribution à la connaissance de l'ultra-structure et de la composition des parois du mycosymbionte de deux lichens. *Th. Doct. Etat, Paris VI*, 207 p.

BROWN R.G., HANIC L.A. and HSIAO M., 1972. – Structure and chemical composition of yeast chlamydospores of *Aureobasidium pullulans*. *Can. J. Microbiol.*, 19 : 163-168.

COLE G.T. and ALDRICH H.C., 1971. – Demonstration of myelin figures in unfixed, freeze-etched fungus spores. *J. Cell. Biol.*, 51 : 873-874.

COOKE W.B., 1959 – An ecological life history of *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud. *Mycopath. Mycol. Appl.*, 12 : 1-45.

COOKE W.B., 1961. – The natural occurrence of *Aureobasidium*. Recent advances in Botany. *Univ. Toronto Press.*

COULOMB C., 1973. – Diversité des corps multivésiculaires et notion d'hétérophagie dans le méristème radiculaire de Scorzonère (*Scorzonera hispanica*). *J. Microsc.*, 16 : 345-360.

COULOMB P., 1980. – Implications de l'appareil vacuolaire dans les phénomènes d'autophagie et hétérophagie. *Soc. bot. Fr., 24 oct. 1980, Nancy* (sous presse).

DAVENPORT R.R., 1966. – The microflora of cider Apple fruit buds. *Long Ashton Annual Report* : 246-248.

DICKINSON C.H., 1976. – Fungi on the aerial surfaces of higher plants. In : *Microbiology of aerial plant surfaces, DICKINSON C.H. and PREECE T.F., Eds. Acad. Press, NY and London* : 293-324.

DOMSCH K.H., GAMS W. and ANDERSON T.H., 1980. — Compendium of soil fungi. *Acad. Press, Vol. I, London, NY* : 130-134.

DOONAN B.B., CRANG R.E., JENSEN T.E. and BAXTER M., 1979. — *In situ* X-ray energy dispersive microanalysis of polyphosphate bodies in *Aureobasidium pullulans. J. Ultrast. Research*, 69 : 232-238.

DURRELL L.W., 1968. — Studies of *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, 35 : 113-120.

EYME J. et ANGELI-COUVY J., 1975. - Cytologie des hyphes de *Agaricus sylvicola* et *A. bispora* : évolution des systèmes membranaires cytoplasmiques au cours du développement. *C.R. Acad. Sc.*, 281 : 771-774.

FEDERICI F., 1982. — Extracellular enzymatic activities in *Aureobasidium pullulans. Mycologia*, 74 (5) : 738-743.

FEVRE M., 1977. — Subcellular localization of glucanase and cellulase in *Saprolegnia monoïca* Pringsheim. *J. Gen. Microbiol.*, 103 : 287-295.

FEVRE M. et ROUGIER M., 1978. — Synthèse de la paroi apicale des hyphes de *Saprolegnia monoïca* : données cytologiques et radioautographiques. *Coll. Soc. Franç., Microsc. Electr., Nancy 1978.* In : *Biol. Cell.*, 32 : 16.

FEVRE M., 1979. — Glucanases, glucan synthetases and wall growth in *Saprolegnia monoïca.* In : *Fungal walls and hyphal growth, BURNETT J.H. and TRINCI A.P.J. Eds., Cambridge Univ. Press* : 225-263.

FEVRE M. et ROUGIER M., 1982. — Autoradiographic study of hyphal wall synthesis of *Saprolegnia. Arch. Microbiol.*, 131 : 212-215.

GADD G.M. and GRIFFITHS A.J., 1980. — Effect of copper on morphology of *Aureobasidium pullulans. Trans. Br. mycol. Soc.*, 74 (2) : 387-392.

GIRBARDT M., 1969. Die Ultrastruktur des apical Region von Pilzhyphen. *Protoplasma*, 67 : 413-441.

GROVE S.N. and BRACKER C.E., 1970. — Protoplasmic organization of hyphal tips among fungi : vesicles and Spitzenkorper. *J. Bact.*, 104 : 989-1009.

IMSHENETSKY A.A., KONDRATYEVA T.F. and SMUTKO A.N., 1981. — The effect of acidity of the medium, aeration and temperature on pullulan biosynthesis by *Pullularia (Aureobasidium) pullulans* polyploid strains. *Mikrobiologija*, 50 (3) : 471-476.

JENNINGS D.H., 1979. — Membrane transport and hyphal growth. In : *Fungal walls and hyphal growth. Symp. British mycol. Soc., London, 1978, BURNETT J.H. and TRINCI A.P.J. Eds, Cambridge Univ. Press*, 279-294.

JUMP J.A., 1938. — A study of forking in red pine. *Phytopathologie*, 28 : 798-811.

KOCKOVA-KRATOCHVILOVA A., CERNAKOVA M. and SLAVIKOVA E., 1980. — Morphological changes during the life cycle of *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud. *Folia Microbiol.*, 25 : 56-67.

KRISTEN U., 1982. — The validity of the endomembrane concept in the light of polysaccharide and protein secretion in higher plants. *Bull. Soc. bot. Fr.*, 129 : 15-21.

LUTERAAN P.J., 1954. - Influence de la forme ensemencée sur le développement et le comportement métabolique de *Pullularia pullulans* (de Bary) et Löw Berkhout en présence de nitrate de sodium. *C.R. Acad. Sc.*, 239 : 595-597.

MARCHANT R. et ROBARDS A.W., 1968. — Membrane systems associated with the plasmalemma of plant cells. *Ann. Bot.*, 32 : 457-471.

McLAUGHLIN D.J., 1972. - Golgi apparatus in the postmeiotic basidium of *Coprinus lagopus. J. Bact.*, 110 : 739-742.

MOORE R.T. and McALEAR J.H., 1961. – Fine structure of Mycota. 5. Lomasomes, previously uncharacterized hyphal structures. *Mycologia*, 53 : 194-200.

OLAH G.M., COLE G.T. et REISINGER O., 1977. – Le rôle et la nature chimique des microvésicules sécrétoires dans l'apex hyphal et dans les cellules sporogènes. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 18 : 301-318.

PASQUIER-CLOUET C., 1984. – Etude physiologique et biochimique de la souche sauvage et de mutants d'*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud au cours de leur processus de morphogenèse. *Thèse Doct. 3ème cycle, Nantes*, 165 pp.

PECHAK D.G. and CRANG R.E., 1977. – An analysis of *Aureobasidium pullulans* developmental stages by means of scanning electron microscopy. *Mycol.*, 69 : 783-792.

PUGH G.J.F. and BUCKLEY N.C., 1975. – *Aureobasidium pullulans* : an endophyte in Sycomore and other trees. *Trans. British mycol. Soc.*, 57 : 227-231.

RAMOS S., GARCIA ACHA I. and PEBERDY J.F., 1975. - Wall structure and the budding process in *Pullularia pullulans*. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 64 : 283-288.

REISINGER O. et KILBERTUS G., 1974 a. – Biodégradation et humidification. IV. Microorganismes intervenant dans la décomposition des cellules d'*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud. *Can. J. Microbiol.*, 20 (3) : 299-306.

REISINGER O., KILBERTUS G. et OLAH G.M., 1974 b. – Etude ultra-structurale du développement des conidies d'une souche d'*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud. *Bull. Acad. Soc. lorr. Sc.*, 13 : 103-111.

SANDERSON F.R., 1965. – Description and epidemiology of *Guignardia fulvida* sp. nov., the ascogenous state of *Aureobasidium pullulans* var. *lini* (Lafferty) Cooke. *N.Z. J. Agric. res.*, 8 : 131-141.

SCHRANTZ J.P., 1977. – Morphogenèse et ultrastructure du stade conidien du *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. *Rev. Mycol.*, 41 : 135-169.

SIMON L. et POULARD A., 1979. – Présence de l'*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud dans le vignoble nantais. Etude microbiologique et écologique. *Bull. Soc. Sc. nat., O. Fr.*, 1 : 57-68.

SIMON L., 1980. -- Scanning electron microscopic study of the early morphological stages of development of *Aureobasidium pullulans* in culture. *Beitr. Biol. Pflanzen*, 55 : 273-283.

SIMON L., BOSSY J.P. and GARREC J.P., 1984. – Ultrastructural and X-ray microanalytical studies on the association of phosphorus and calcium in metachromatic granules of the hyphae in *Aureobasidium pullulans*. *Physiol. vég.*, 22 (6) (sous presse).

THIERY J.P., 1967. - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscopie*, 6 : 987-1018.

TRONCHIN G., POULAIN D, HERBAUT J. et BIGUET J., 1982. – Localisation intracellulaire et pariétale des sites récepteurs à la concanavaline. A : application à l'étude ultrastructurale des mécanismes de regénération chez les levures *(Candida albicans)*. *Biol. Cell.*, 46 (1) : 85-92.

WYNNE E.S. and GOTT C.L., 1956. -- A proposed revision of the genus *Pullularia*. *J. Gen. Microbiol.*, 14 : 512-519.

LEGENDE DES PLANCHES
LEGEND OF PLATES

ABREVIATIONS UTILISÉES :

CY : cytoplasme. EM : enroulement membranaire. G : Golgi. GY : glycogène. L : lipide. M : mitochondrie. N : noyau. P : paroi. PL : plasmalemme. PLS : plasmalemmasome. PMd : profil membranaire dilaté. PP : précurseur de granules métachromatiques. RE : reticulum endoplasmique. S : septum. T : tonoplaste. VA : vacuole. VG : vésicule golgienne. Vg : vésicule à granules. VS : vésicule sécrétrice. VV : vésicule vacuolaire. μV : microvésicule. La barre représente 1 μm sauf dans les cas spécialement mentionnés.

ABREVIATIONS USED :

CY : cytoplasm. EM : concentric membrane body. G : Golgi. GY : glycogen. L : lipid. M : mitochondrion. N : nucleus. P : wall. PL : plasma membrane. PLS : plamalemmasome. Pmd : enlarged membrane profile. PP : polyphosphates. RE : endoplasmic reticulum. S : septum. T : tonoplast. VA : vacuole. VG : Golgi vesicle. Vg : granular vesicle. VS : secretory vesicle. VV : vacuolar vesicle. μV : microvesicle. The bar measures 1 μm except when otherwise stated.

Fig. 1 à 4 : Extrémité hyphale. Fig. 1, région apicale et subapicale. Fig. 2, détail de la région subapicale. Fig. 3, détail de la région apicale. Certaines vésicules golgiennes contiennent des granules peu denses aux électrons. Fig. 4. test de THIERY. Les marges (flèches) de profils membranaires dilatés engendrent des vésicules sécrétrices qui confluent à l'apex. Les microvésicules sont réparties de manière homogène dans le cytoplasme.

Fig. 1 to 4 : Hyphal tip. Fig. 1, apical and subapicale zone. Fig. 2, detail of the subapical zone. Fig. 3, detail of the apical zone. Several Gorgi vesicles contain granules that are slightly electron-dense. Fig. 4, THIERY test. The edges (arrows) of the enlarged membrane profiles produce secretory vesicles converging towards the apex. The microvesicles are regularly distributed throughout the cytoplasm.

Fig. 5 à 8 : Région sous-apicale proximale. Fig. 5, le cytoplasme dense est caractérisé par la présence de noyaux et nombreuses vésicules golgiennes dont certaines renferment des granules peu denses aux électrons.

Fig. 5 to 8 : Area behind the apical zone. Fig. 5, the dense cytoplasm is characterized by nuclei and numerous vesicles a few of which contain slightly electron-dense granules.

Fig. 6 et 7 : Portions cytoplasmiques riches en organites cellulaires. Le plasmalemme est ondulé (fig. 6). Des mitochondries repliées (fig. 6 et 7, flèches) séquestrent une aire cytoplasmique appauvrie en ribosomes.

Fig. 6 and 7 : Cytoplasmic areas rich is in cellular organelles. The plasmalemma is sinuous (fig. 6). Folded up mitochondria (arrows) sequester a cytoplasmic area poor in ribosomes.

Fig. [redacted] : Detail d'une mitochondrie. L'aire cytoplasmique séquestrée présente des associations ribosomales (flèches). Les crêtes internes sont dilatées. La barre mesure 0,5 μm.

Fig. 8 : Detail of a mitochondrion. The sequestered cytoplasmic area shows polysomes (arrows). The internal cristae are enlarged. The bar measures 0,5 μm.

Fig. 9 à 14 : Région sous-apicale proximale, test de THIERY. Fig. 9 et 10, les replis du plasmalemme sont à l'origine de la formation de plasmalemmasomes. Il existe de petites cristallisations polysaccharidiques intracytoplasmiques. La membrane des vésicules golgiennes est légèrement marquée par le protéinate d'argent, certaines vésicules montrent des granules internes. Fig. 11, détail de vésicules golgiennes renfermant des profils membranaires et des granules peu denses aux électrons. Fig. 12, trois noyaux reliés par des profils de reticulum endoplasmique sont apparents. Les vacuoles contiennent des granules de phosphates. Fig. 13, détail de vésicule golgienne et vacuole. La barre mesure 0,5 μm. Fig. 14, le reticulum endoplasmique et une vésicule golgienne rejoignent le plasmalemme très sinueux.

Fig. 9 to 14 : Area behind the apical zone, THIERY test. Fig. 9 to 10, the plasmalemma folds produce plasmalemmasomes. The cytoplasm shows cristallized polysaccharides. The membrane of Golgi vesicles is slightly labelled by silver proteinate, several vesicles show internal granules. Fig. 11, detail of Golgi vesicles containing membrane profiles and slightly electro-dense granules. Fig. 12, three nuclei connected by endoplasmic reticulum. The vacuoles show phosphate bodies. Fig. 13, detail of Golgi vesicles and vacuole. The bar measures 0,5 μm. Fig. 14, the endoplasmic reticulum and a Golgi vesicle are associated with the sinuous plasmalemma.

Fig. 15 à 20 : Région sous-apicale, en cours de différenciation. Fig. 15, la vacuole comporte des enroulements membranaires. On observe une image d'endocytose (flèches doubles). Fig. 16, association plasmalemme-reticulum endoplasmique pour la capture de matériel polysaccharidique. Fig. 17, relation reticulum endoplasmique-vésicules golgiennes. Vacuoles jeunes renfermant les précurseurs des granules métachromatiques. La barre représente 0,5 μm. Fig. 18, test de THIERY, dilatations du reticulum endoplasmique et formations vacuolaires. La barre mesure 0,5 μm. Fig. 19, test de THIERY : les polysaccharides cristallisés sous forme de rosettes et de glycogène sont localisées à proximité ou au contact de jeunes vacuoles ; les flèches indiquent l'emplacement des précurseurs dissous des granules métachromatiques. Fig. 20, test de THIERY, les particules de glycogène sont capturées par des replis de plasmalemme dont certains sont étroitement associés au tonoplaste des vacuoles.

Fig. 15 to 20 : Area behind the apical zone, in process of differentiation. Fig. 15, the vacuole shows a concentric membrane body. We observe a figure of endocytosis (double arrows). Fig. 16, plasmalemma endoplasmic reticulum connection in order to capture polysaccharides. Fig. 17, relation endoplasmic reticulum-Golgi vesicles. Small vacuoles containing metachromatic precursors. The bar measures 0,5 μm. Fig. 18, THIERY test, endoplasmic reticulum enlargement and vacuolar formation. The bar measures 0,5 μm. Fig. 19, THIERY test : α – cristallized glycogen is located close to small vacuoles ; arrows show the location of metachromatic precursors. Fig. 20, THIERY test, glycogen particles ▬ collected by the folds of the plasmalemma which is closely linked to the tonoplast.

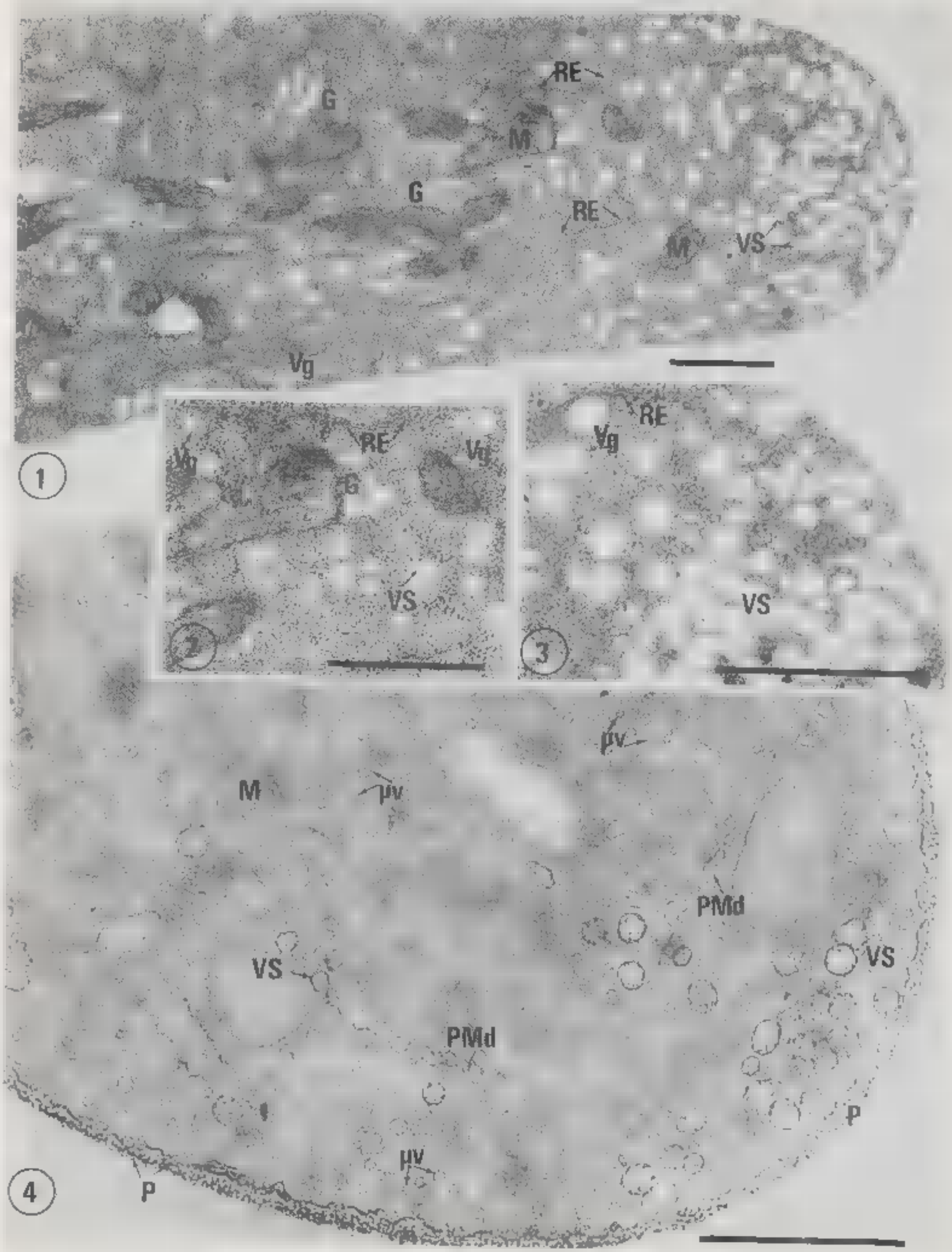
Fig. 21 à 28 : Région sous-apicale, en cours de différenciation. Fig. 21, portion cytoplasmique : lipides ▬ voie de dégradation. Fig. 22, vacuole comportant des granules de polyphosphates et des enroulements membranaires concentriques. Fig. 23, images de capture de plasmalemmasomes par endocytose (flèches doubles). La barre mesure 0,5 μm. Fig. 24, test de THIERY, plasmalemmasomes simple et composé à aspect plurivésiculaire. Fig. 25, vacuole comportant des polyphosphates et des vésicules. Fig. 26, vacuole autophagique comportant des plages cytoplasmiques et de petites vésicules (flèche). Fig. 27, test de THIERY, structure du septum intercellulaire : 3 couches polysaccharidiques (flèches). Fig. 28, plage périplasmique ; le repli du plasmalemme capture un enroulement membranaire.

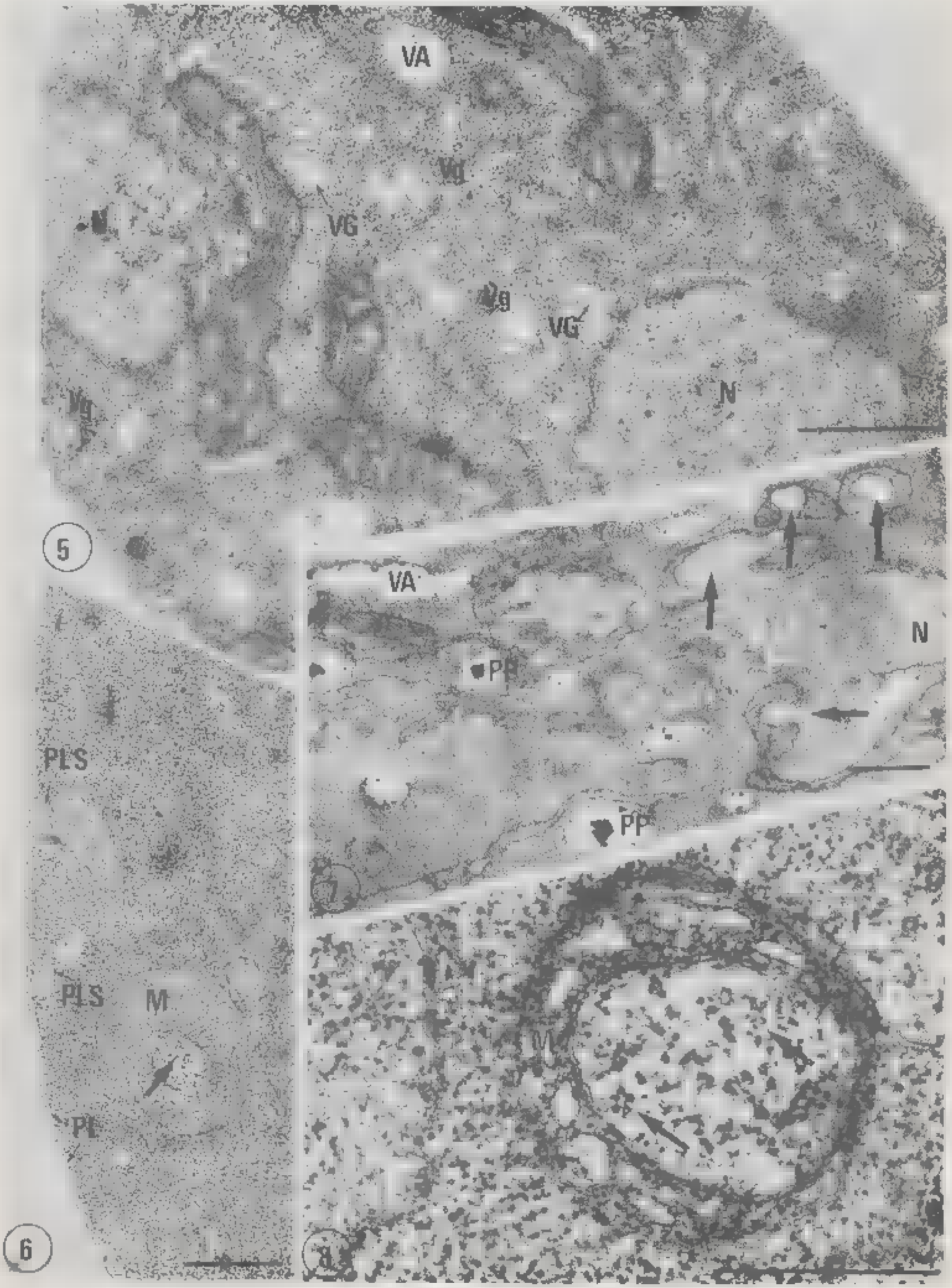
Fig. 21 to 28 : Area behind the apical zone, in process of differentiation. Fig. 21, cytoplasmic area : altering lipids. Fig. 22, vacuole with polyphosphate granules and concentric membrane bodies. Fig. 23, plasmalemmasomes are captured by endocytosis (double arrows).

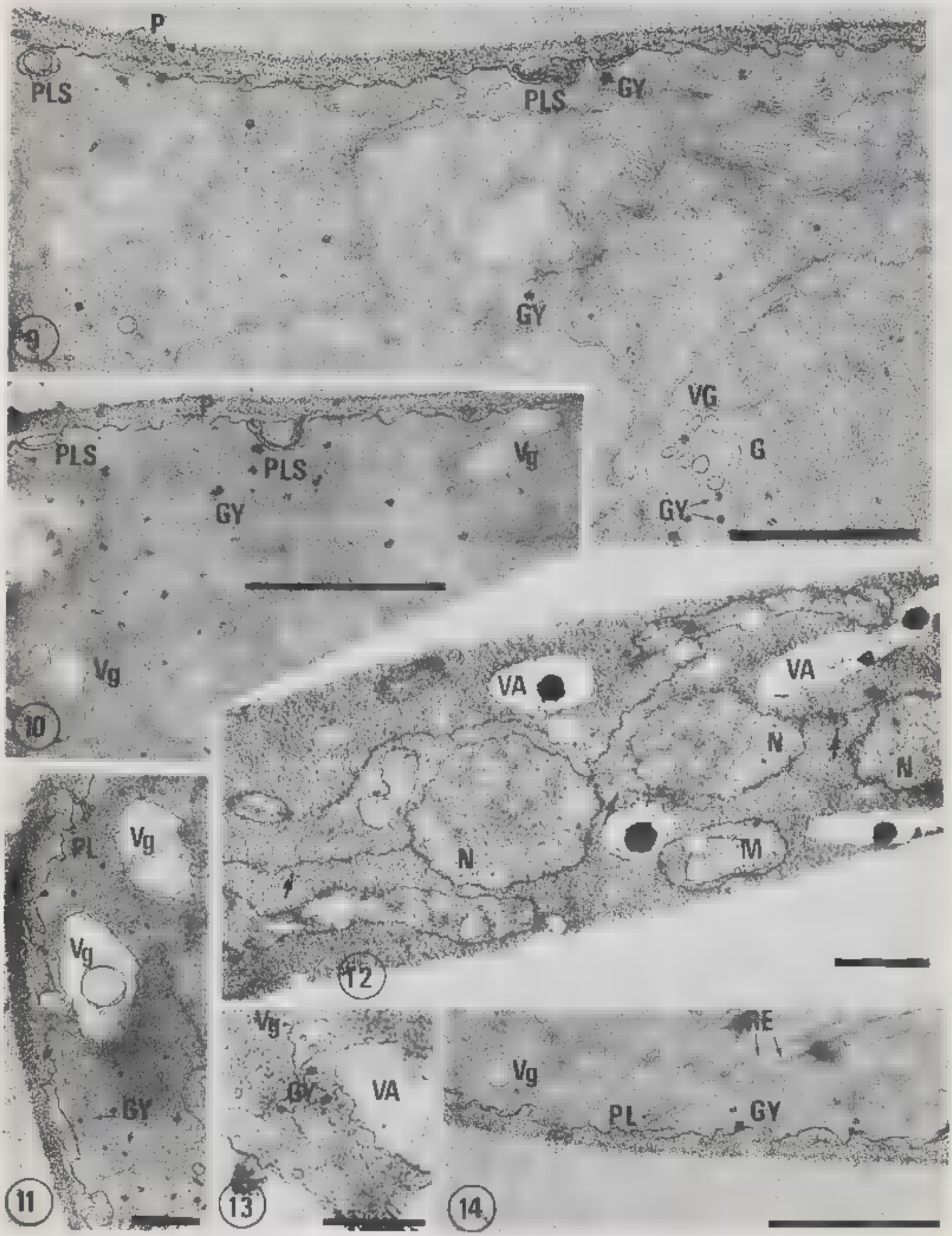
The bar measures 0,5 μm. Fig. 24, THIERY test, single and composite plurivesicular plasmalemmasomes. Fig. 25, vacuole with polyphosphates and vesicles. Fig. 26, autophagic vacuole with cytoplasmic areas and small vesicles (arrow). Fig. 27, THIERY test, intercellular septum structure : 3 polysaccharidic layers (arrows). Fig. 28, periplasmic area ; the fold of the plasmalemma capture a concentric membrane body.

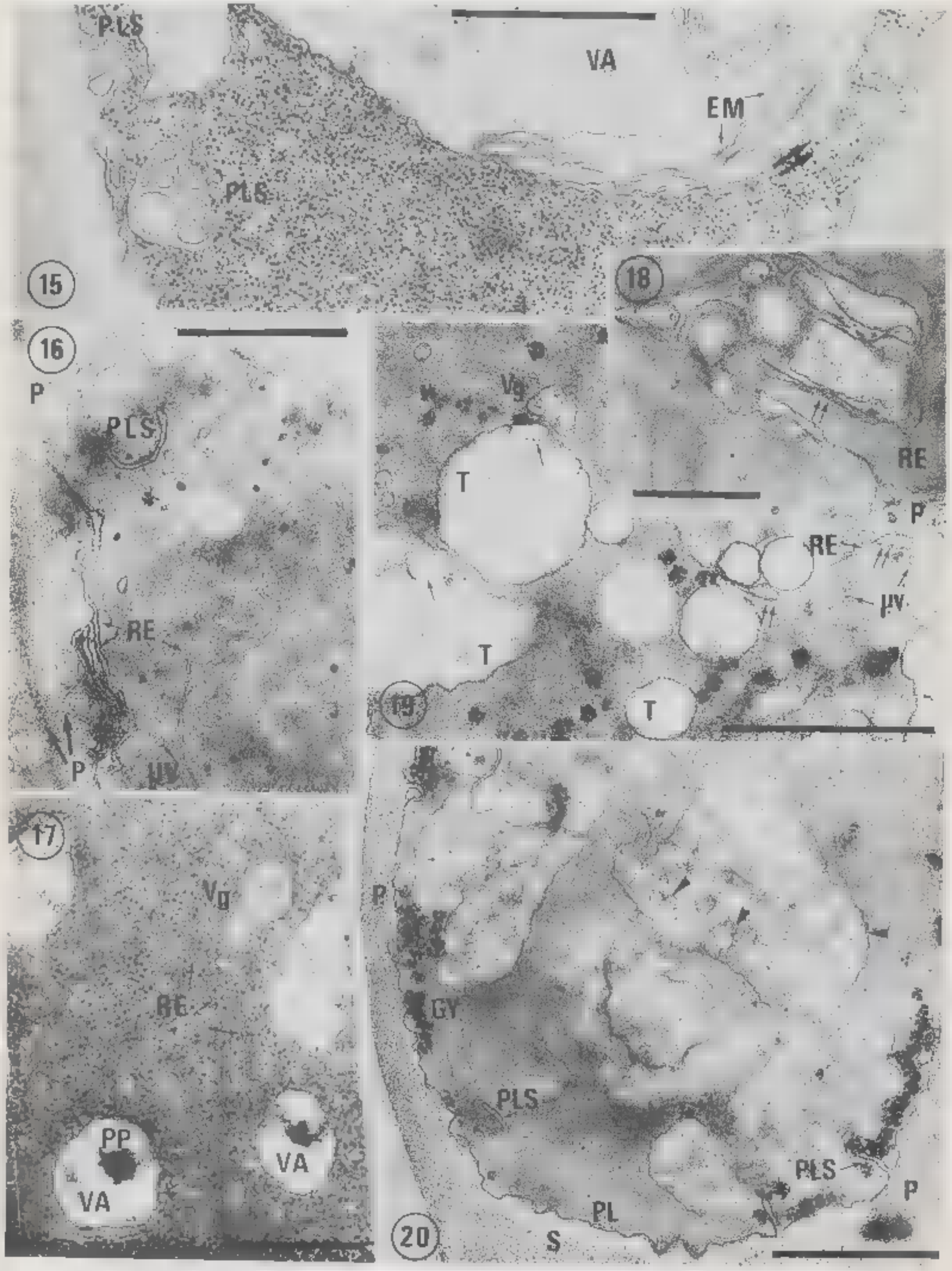
Fig. 29 à 34 : Région hyphale différenciée. Fig. 29, ensemble de vacuoles autophagiques, certaines sont encombrées d'enroulements membranaires (flèches). Fig. 30 et 32, portions vacuolaires montrant de petits granules métachromatiques dont certains sont vidés de leur contenu. Fig. 31, détail de gros granules à polyphosphates ; m, membrane limitante. La barre mesure 0,5 μm. Fig. 34, test de THIERY, aspect de quelques plasmalemmasomes. Fig. 33 et 35, images d'endocytose (flèches) [fig. 33, la barre mesure 0,5 μm].

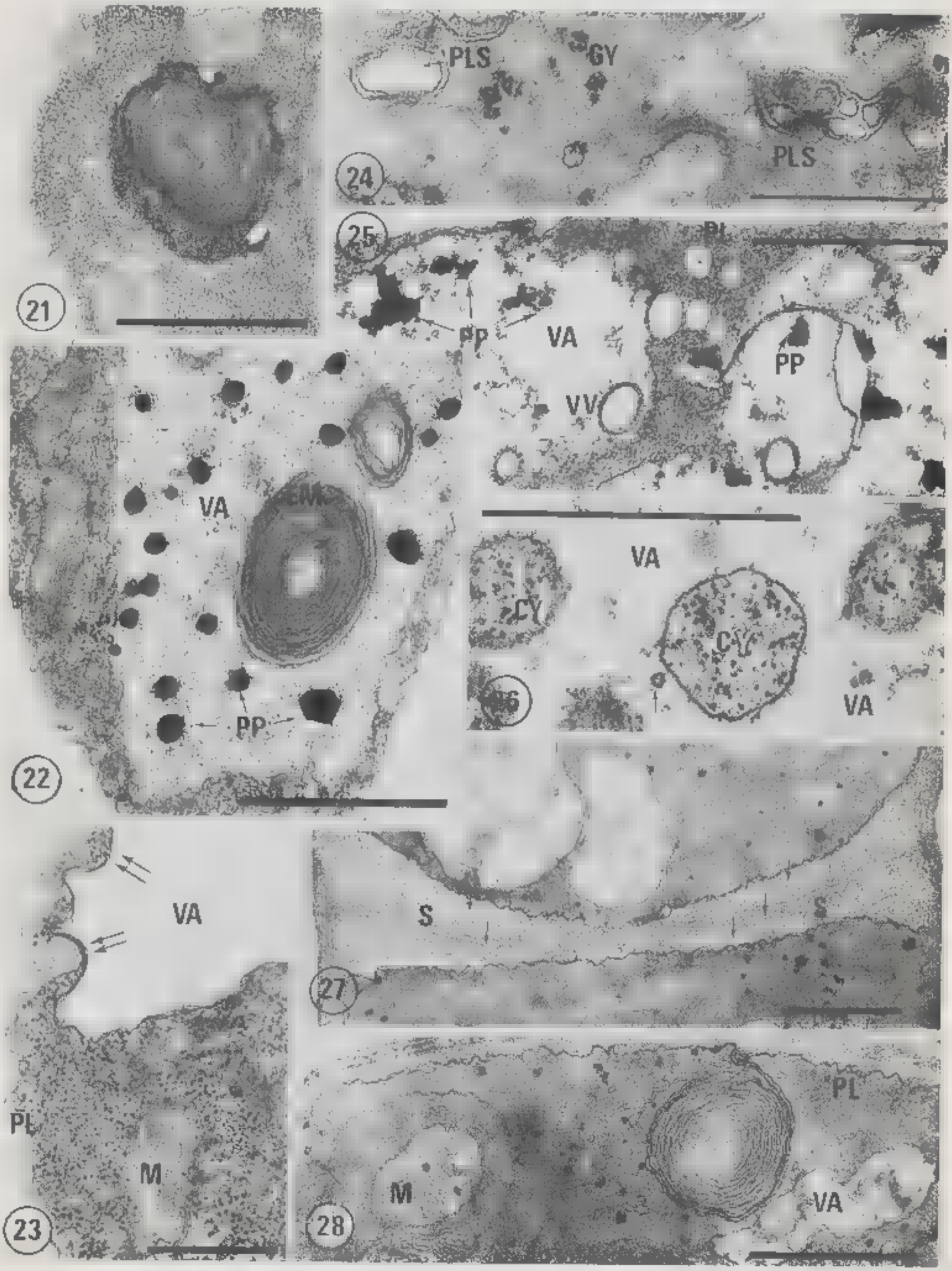
Fig. 29 to 34 : Differentiated hyphal area. Fig. 29, several autophagic vacuoles a few of which show membrane coil (arrows). Fig. 30 and 32, vacuolar areas showing small metachromatic granules a few of which are emptied of their content. Fig. 31, detail of large polyphosphate granules ; m, limitating membrane. The bar measures 0,5 μm. Fig. 34, THIERY test, several plasmalemmasomes. Fig. 33 and 35, figures of endocytosis (arrows). [fig. 33, the bar measures 0,5 μm].

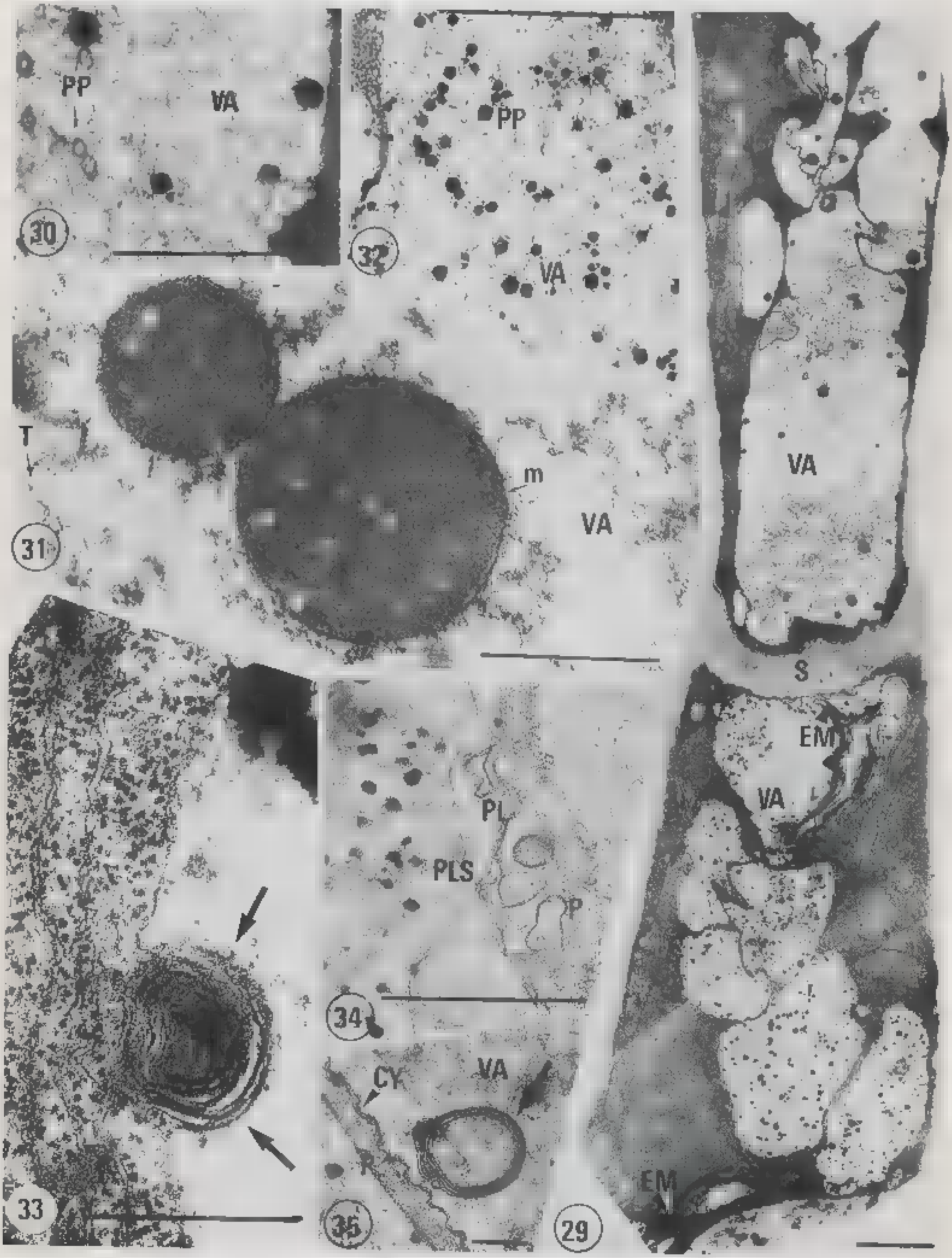

RE
G
M
G
RE
M
VS
Vg
1
RE
Vg
Vg
G
VS
2
RE
Vg
VS
3
μv
M
μv
PMd
VS
VS
PMd
P
μv
4
P


VA
Vg
VG
Vg
VG
Vg
N
5
VA
PP
N
PP
7
PLS
PLS
M
PI
6
M
8


P
PLS
PLS
GY
GY
VG
G
GY
9
PLS
PLS
Vg
GY
Vg
10
VA
VA
N
N
N
M
12
PL
Vg
Vg
GY
11
Vg
GY
VA
13
RE
Vg
PL
GY
14


15
PLS
PLS
VA
EM
16
P
PLS
RE
P
µV
17
Vg
RE
PP
VA
VA
18
RE
P
RE
µV
19
Vg
T
T
T
20
P
GY
PLS
PLS
PL
S
P


PLS
GY
PLS
24
25
PL
PP
VA
PP
VV
21
VA
PP
22
VA
CY
CY
26
VA
VA
S
S
27
PL
M
23
PL
M
28
VA


PP
VA
30
PP
VA
32
T
m
VA
31
VA
S
EM
VA
PL
PLS
P
34
33
CY
VA
35
29
EM